

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

#5
IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re PATENT Application of
Muller

Application No. 09/915,549

Filed: July 27, 2001

For: DISPERSIONS FOR THE FORMULATION OF SLIGHTLY OR POORLY
SOLUBLE AGENTS



Group Art Unit: 1615

Examiner: Unassigned

* * * * *

December 30, 2001

SUBMISSION OF CERTIFIED PRIORITY DOCUMENT

Hon. Commissioner of Patents
and Trademarks
Washington, D.C. 20231

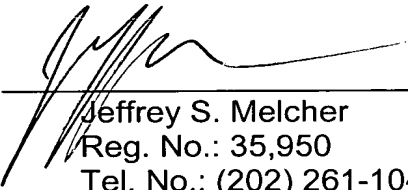
Sir:

Enclosed is a certified copy of German Patent Application No. 100 36 871.9,
which is the priority document for the subject application.

Respectfully submitted,

Manelli Denison & Selter PLLC

By



Jeffrey S. Melcher
Reg. No.: 35,950
Tel. No.: (202) 261-1045
Fax. No.: (202) 887-0336

Customer No. 20736

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 100 36 871.9

Anmeldetag: 28. Juli 2000

Anmelder/Inhaber: PharmaSol GmbH, Berlin/DE

Bezeichnung: Dispersionen zur Formulierung wenig oder schwer löslicher Wirkstoffe

IPC: A 61 K 9/10

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 20. Juli 2001
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Ebert

UEXKÜLL & STOLBERG

PATENTANWÄLTE

BESELERSTRASSE 4
D - 22607 HAMBURG

EUROPEAN PATENT ATTORNEYS
EUROPEAN TRADEMARK ATTORNEYS

DR. J.-D. FRHR. von UEXKÜLL (- 1992)
DR. ULRICH GRAF STOLBERG (- 1998)
DIPL.-ING. JÜRGEN SUCHANTKE
DIPL.-ING. ARNULF HUBER
DR. ALLARD von KAMEKE
DIPL.-BIOL. INGEBORG VOELKER
DR. PETER FRANCK
DR. GEORG BOTH
DR. ULRICH-MARIA GROSS
DR. HELMUT von HEESCH
DR. JOHANNES AHME
DR. HEINZ-PETER MUTH
DIPL.-ING. LARS MANKE
DR. MARTIN WEBER-QUITZAU
DR. BERND JANSSEN
DR. ALBRECHT von MENGES

RECHTSANWALT
EUROPEAN TRADEMARK ATTORNEY
DR. FRANK DETTMANN

Juli 2000
(P 54525 vH)

PharmaSol GmbH
Blohmstraße 66a
12307 Berlin

Dispersionen zur Formulierung wenig oder schwer löslicher Wirkstoffe

Die Erfindung betrifft Dispersionen, die eine ölige Phase, eine wäßrige Phase und in diesen beiden Phasen wenig löslichen, schwer löslichen bis zu unlöslichen Arzneimittelwirkstoff umfassen.

Wirkstoffe mit geringer Löslichkeit haben sehr oft das Problem einer unzureichenden Bioverfügbarkeit. Der generelle Lösungsansatz für dieses Problem ist die Erhöhung der Löslichkeit dieser Wirkstoffe. Beispiele hierfür sind die Lösungsvermittlung über Solubilisation, Bildung von Einschlußverbindungen (z. B. mit Cyclodextrinen) sowie die Verwendung von Lösungsmittelgemischen (K. H. Bauer, K.-H. Frömming, C. Führer, Pharmazeutische Technologie, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1991). Für viele Wirkstoffe führt dies jedoch nicht zu einer ausreichenden Erhöhung der Löslichkeit, insbesondere wenn Wirkstoffe gleichzeitig schwerlöslich in wäßrigen Medien und gleichzeitig schwerlöslich in organischen Medien sind. Hier scheiden z. B. Lösungsmittelgemische als Lösung für das Problem aus. Alternativ können gering wasserlösliche Wirkstoffe in Ölen gelöst werden,

eine O/W-Emulsion hergestellt und diese dann oral oder parenteral (in der Regel i.v.) appliziert werden. Sehr viele Wirkstoffe, insbesondere Wirkstoffe mit gleichzeitig geringer Löslichkeit in wäßrigen und organischen Medien, sind jedoch nicht ausreichend
5 in Ölen löslich. Nicht ausreichend bedeutet, daß aufgrund zu geringer Löslichkeit bei erforderlicher Dosis das zu applizierende Volumen der Emulsion zu groß wird.

In Wasser und in Ölen gering lösliche Wirkstoffe wie Amphotericin
10 B können trotzdem in Emulsionen eingearbeitet werden (Seki et al. US 5 534 502). Um dies zu erreichen müssen jedoch zusätzliche organische Lösungsmittel eingesetzt werden. Diese Lösungsmittel müssen dann in Zwischenschritten der Emulsionsherstellung oder dem Produkt wieder entzogen werden (Davis, Washington, EP 0 296
15 845 A1) wobei jedoch ein gewisser Restlösungsmittelgehalt im Produkt verbleibt. Zusätzlich ist diese Herstellung sehr zeitaufwendig und kostenintensiv, so daß Produkte basierend auf dieser Technologie praktisch auf dem Markt nicht vertreten sind. Eine alternative Methode ist die Einlagerung von derartigen
20 Substanzen wie Amphotericin B in die Phospholipid-Doppelmembran von Liposomen, Handelsprodukt ist beispielsweise Ambisome[®] (Janknegt et al., Liposomal and lipid formulations of amphotericin B, Clin. Pharmacokinet., 23, 279-291 [1992]). Nachteilig ist aber auch hier die sehr teure Herstellung, so daß es in der Regel
25 nur in Notfällen eingesetzt wird, wenn eine andere Behandlung nicht zum Ziel führt bzw. nur bei Patienten eingesetzt wird, die finanziell in der Lage sind, die Behandlung zu bezahlen. Somit besteht eindeutig ein Bedarf an einer kostengünstigen Formulierung, die gleichzeitig möglichst einfach herzustellen ist, im
30 Gegensatz zu Liposomen lagerstabil ist und eine Lyophilisation nicht erfordert sowie nicht von Restlösungsmitteln belastet ist.

Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine Dispersion zur Verfügung zu stellen, die einen wenig, schwer oder
35 sogar bisher unlöslichen Wirkstoff in einer bisher nicht möglichen Menge gelöst enthält, wobei gleichzeitig die oben

beschriebenen Nachteile der Verwendung zusätzlicher zur Formulierung bisher notwendiger organischer Lösungsmittel entfällt.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher eine Dispersion
5 auf der Basis einer O/W-Emulsion beladen mit Wirkstoff, der in Wasser und gleichzeitig auch in Ölen wenig löslich oder schwer löslich bis hin zu unlöslich ist, wobei diese Dispersion frei von toxikologisch bedenklichen organischen Lösungsmitteln ist und den Wirkstoff gelöst in einer Menge enthält, die höher ist als die
10 Menge, die sich additiv aus seiner maximalen Löslichkeit in der Wasser- und der Ölphase der Emulsion ergibt.

Insbesondere ist die erfindungsgemäß gelöste Menge um den Faktor 2, bevorzugter 5, noch bevorzugter 10 oder noch größer als die
15 additive Menge.

Die "additive Menge" wird durch Auflösen der maximalen Wirkstoffmenge in den separaten öligen und wäßrigen Phasen (bei ansonsten identischen Lösebedingungen) entsprechend den Anteilen in der
20 Dispersion ermittelt (Sättigungskonzentrationen), wobei keine weiteren zusätzlichen organischen Lösungsmittel zum Einsatz kommen. Die erfindungsgemäße Dispersion enthält zusätzlich zu der additiven Menge ein überadditive Menge an gelöstem Wirkstoff.

25 Ein wichtiges erfindungsgemäßes Merkmal ist, daß bei gleicher Zusammensetzung hochenergetisch homogenisiert wird, im Vergleich zu niederenergetischem Dispergieren (Schütteln oder Blattrührer).

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Dispersion erfolgt
30 insbesondere unter Ausschluß von toxikologisch bedenklichen organischen Lösungsmitteln wie z.B. Methylenchlorid und Ethanol. Die Wirkstoffe werden unter Umgehung eines Zwischenschrittes direkt aus der festen Substanz in die Emulsion eingearbeitet.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

Generell ist es anerkannter Stand der Wissenschaft, daß die Moleküle eines schwerlöslichen oder gering löslichen Wirkstoffes aus dem festen Aggregatzustand (Pulver) über mindestens einen Zwischenschritt (z. B. molekulardisperse Verteilung in einem Lösungsmittel) in eine Emulsion als Trägersystem eingearbeitet werden müssen. Die Erfahrung zeigt, daß bei in Wasser und Öl gleichzeitig sehr gering löslichen Substanzen es nicht genügt, eine Emulsion mit Kristallen des Wirkstoffes zu versetzen. So führt die teilweise praktizierte Zumischung von Amphotericin B-Lösung (Lösungsmittelgemisch) zu einer handelsüblichen O/W-Emulsion wie Intralipid oder Lipofundin zur Präzipitation des Wirkstoffes, es entstehen Amphotericin B-Kristalle, die sedimentieren und sich nicht mehr in der Emulsion auflösen.

Überraschender Weise wurde jedoch nun gefunden, daß die Herstellung eines Emulsionssystems mit gelöstem Wirkstoff auch direkt aus dem festen Aggregatzustand des Wirkstoffes möglich ist. Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Dispersion wird der Wirkstoff in partikulärer Form der Wasserphase oder der Ölphase zugesetzt und anschließend alle Komponenten einem höher energetischen oder hochenergetischen Prozeß wie z. B. der Homogenisation, insbesondere der Hochdruckhomogenisation unterzogen. Der hochenergetische Prozeß der Hochdruckhomogenisation führt dazu, daß der Wirkstoff in die Emulsion molekulardispers eingearbeitet wird und keine Wirkstoffkristalle mehr im Polarisationsmikroskop detektierbar sind. Die erhaltenen Emulsionen sind überraschender Weise ähnlich stabil wie Systeme, die unter Einsatz von organischen Lösungsmitteln erzeugt worden sind.

Eine sehr einfache Art der Einarbeitung der Wirkstoffkristalle ist die Verreibung des Wirkstoffes mit einer handelsüblichen O/W-Emulsion (z. B. Lipofundin, Intralipid). Nach Anreiben befindet sich der Wirkstoff primär in der Wasserphase, es ist ein disperses System entstanden, das als innere Phase gleichzeitig

Öltropfen und Wirkstoff-Kristalle enthält. Dieses disperse System wird dann homogenisiert oder hochdruckhomogenisiert (z. B. 1.500 bar und 5 – 20 Homogenisationszyklen). Es wird eine feindisperse Emulsion erhalten (Beispiel 1), in der am Ende des Homogenisationsprozesses keine Wirkstoff-Kristalle mehr nachweisbar sind. Die Kristalle haben sich daher nahezu vollständig oder vollständig aufgelöst, d.h. daß sich im Lichtmikroskop selbst bei 1000 facher Vergrößerung in 2 von 3 Feldern nicht mehr als 10 Kristalle, vorzugsweise nicht mehr als 5 Kristalle und insbesondere nicht mehr als 1 Kristall nachweisen lassen/läßt.

Falls es gewünscht ist, kann der Wirkstoff jedoch auch in einer solchen Menge eingesetzt werden, daß am Ende des Homogenisationsprozesses neben dem gelösten Anteil des Wirkstoffs noch ein Anteil des Wirkstoffs in ungelöster kristalliner Form vorliegt, der ein Depot bildet.

Alternativ kann eine wäßrige Suspension des Wirkstoffes mit einer O/W-Emulsion gemischt werden. Es handelt sich wieder um ein disperses System mit einer dispergierten Phase aus Öltropfen und Wirkstoff-Kristallen. Dieses wird ebenfalls einem höher oder hochenergetischem Prozeß wie der Hochdruckhomogenisation unterzogen. Die Zumischung einer wäßrigen Suspension des Wirkstoffes eignet sich insbesondere dann, wenn die Wirkstoffkonzentration relativ gering ist. Zusätzlich kann die wäßrige Suspension des Wirkstoffes vor der Zumischung einem in den Lehrbüchern beschriebenen Mahlprozeß unterzogen werden, z. B. Naßmahlung mit einer Kolloidmühle, einer Kugelmühle oder einer Perlmühle oder durch Hochdruckhomogenisation vorzerkleinert werden.

Generell ist es günstig, den Wirkstoff in der Form sehr feiner Kristalle zu verwenden, d. h. in mikronisierter Form mit einer Teilchengröße im Bereich von ca. 0,1 µm – 25 µm (Kolloidmühle, Gasstrahlmühle).

Alternativ kann der Wirkstoff auch im Öl dispergiert werden. Das Öl mit den Wirkstoff-Kristallen wird dann in der Wasserphase dispergiert, wobei das dafür notwendige Tensid entweder der Wasserphase zugesetzt wird oder in der Ölphase gelöst wird bzw.
5 jeweils dispergiert wird. Im Falle von Lecithin kann das Lecithin im Wasser dispergiert werden oder in der Ölphase unter leichtem Erwärmen gelöst werden.

Bei Einarbeitung der Wirkstoff-Kristalle in die Ölphase kann dies
10 ohne Zusatz eines Tensids erfolgen. Das Tensid, z. B. Lecithin, wird anschließend zugesetzt. Alternativ können auch die Wirkstoff-Kristalle in eine Ölphase eingearbeitet werden, die bereits Tensid enthält.

15 Nach Einarbeitung der Wirkstoff-Kristalle in das Öl wird die Ölphase in Wasser dispergiert (z. B. mit einem hochtourigen Rührer) und die erhaltene Rohemulsion anschließend hochdruckhomo-
genisiert. Auch hier ist es günstig, die Wirkstoff-Kristalle möglichst klein einzusetzen. Zur weiteren Zerkleinerung der in
20 die Ölphase eingearbeiteten Wirkstoff-Kristalle kann diese ölige Suspension vor dem Herstellen der Rohemulsion zunächst einer Mahlung unterzogen werden. Die Wirkstoff-Kristalle in der Ölphase werden durch diese Naßmahlung weiter zerkleinert, teilweise bis
in den Nanometerbereich. Übliche Verfahren der Naßmahlung, die
25 eingesetzt werden können, sind z. B. die Kolloidmühle und die Hochdruckhomogenisation der Ölphase. Generell ist die Kavitation einer wäßrigen Phase das anerkannte Prinzip der Zerkleinerung bei der Hochdruckhomogenisation, d. h. die Anwesenheit von Wasser ist zur Kavitation erforderlich. Öle mit einem zu Wasser extrem
30 geringen Dampfdruck sind zur Kavitation nicht fähig. Trotzdem wurde überraschender Weise gefunden, daß eine zur Herstellung des neuen Trägersystems ausreichende Zerkleinerung auftritt.

Charakteristisch für die erfindungsgemäße Dispersion ist, daß der
35 in der Emulsion eingearbeitete Wirkstoff in höherer Menge gelöst vorliegt als es sich additiv aus seiner maximalen Löslichkeit in

der Wasser- und Ölphase der Emulsion ergibt und gleichzeitig zur Herstellung keine toxikologisch bedenklichen organischen Lösungsmittel eingesetzt wurden. Zu solchen toxikologisch bedenklichen organischen Lösungsmitteln gehören insbesondere
5 Chloroform, Methylenchlorid, längerkettige Alkohole wie Hexanol und Octanol, aber auch ethanol in höheren Konzentrationen.

In der Regel handelt es sich bei den erfindungsgemäßen Wirkstoffen um Wirkstoffe, die wenig löslich (1 Teil löst sich in 30-
10 100 Teilen Lösungsmittel) oder schwer löslich (1 Teil in 100-1000 Teilen Lösungsmittel), insbesondere aber sehr schwer löslich (1 Teil löst sich in 1.000 bis 10.000 Teilen Lösungsmittel) oder sogar unlöslich sind (> 10.000 Teile Lösungsmittel).

15 So beträgt die Löslichkeit von Amphotericin B in Wasser weniger als 0,001% ($< 0,01$ mg/ml) bei pH 6-7, das heißt dem pH-Wert der Emulsion. Die Löslichkeit von Amphotericin ist zwar höher bei pH 2 und pH 11 (0,1 mg/ml), jedoch sind diese Lösungen nicht intravenös applizierbar.

20 Die Löslichkeit von Amphotericin in Sojaöl (Long Chain Triglycerides - LCT) und in Miglyol 812 (Medium Chain Triglycerides - MCT), den Standardölen für die meisten auf dem Markt befindlichen Emulsionen zur parenteralen Infusion ist kleiner als 0,0001
25 mg/ml.

40g Emulsion aus Beispiel 1 bestehen zu 20% aus Öl (8g) und ca. 80% aus Wasser (32g). Somit lassen sich aufgrund der Löslichkeiten $8 \times 0,0001$ mg/ml plus $32 \times 0,01$ mg, d.h. insgesamt 0,3208
30 mg Amphotericin in 40g Emulsionsbestandteilen Öl und Wasser auflösen, d.h. 0,008 mg/ml. In der vorliegen erfindungsgemäßen Emulsion konnten 0,2 mg/ml Emulsion eingearbeitet werden (Beispiel 1) ohne daß mikroskopisch Kristalle von ungelöstem Arzneistoff detektierbar waren (Beispiel 12). Auch höhere
35 Konzentration wie 1 mg/ml Emulsion konnten eingearbeitet werden (Beispiel 2), mit Laserdiffraktometrie waren keine der zur

Herstellung eingesetzten Arzneistoffpartikel mehr detektierbar (Beispiel 11).

Bei einer gewünschten Dosis von z.B. 100 mg Amphotericin B ergibt
5 sich bei den erfindungsgemäßen Dispersionen mit 1 bzw. 0,2 mg/ml
Emulsion ein intravenös zu applizierendes Volumen von 100 bis 500
ml Emulsion. Somit werden mit der erfindungsgemäßen Emulsion
wenig lösliche und schwer lösliche Wirkstoffe erst in einem
ausreichend kleinen Applikationsvolumen bei verträglichen pH-
10 Werten applizierbar.

Gelöster Wirkstoff ist schnell verfügbar. Zur Erzeugung eines
Depots kann mehr Wirkstoff in die Dispersion eingearbeitet werden
als sich darin löst, d h. man erzeugt Kristalle, die als Depot
15 wirken. Die Löslichkeit in Wasser und Ölphase betragen z.B. für
Amphotericin B 0,008 mg/ml, die erfindungsgemäße Emulsion löst
ohne detektierbare Kristalle z.B. 0,2 mg/ml (Beispiel 1).
Arbeitet man 5 mg/ml Dispersion ein, so ist die Löslichkeit
überschritten (übersättigtes System). Nach Hochdruckhomogenisa-
20 tion erhält man zusätzlich zum gelösten Wirkstoff noch hochfeine
Arzneistoffkriställchen (Beispiel 15).

Die durch Mischung von Arzneistoff (Beispiel 15) oder einer
Arzneistoffsuspension (analog Beispiel 6) mit einer Emulsion und
25 anschließende Homogenisation hergestellten heterogenen, über-
sättigten Dispersionen sind dadurch gekennzeichnet, daß separat
nebeneinander Öltropfen und hochfeine Kriställchen existieren,
d.h. die Kristalle sind primär außerhalb der Öltropfen.

30 Die Bestimmung der Partikelgröße erfolgt mit Lichtmikroskopie
unter Ermittlung der Anzahlverteilung. Alternativ erfolgt die
Bestimmung mit Laserdiffraktometrie (Gerät: Coulter LS 230,
Coulter Electronics, Krefeld, Germany), wobei die erhaltene
Volumenverteilung in die Anzahlverteilung umgerechnet wird.

Sind in der Dispersion bei hoher Beladung mit Wirkstoff neben den Emulsionstropfen noch Arzneistoffkristalle vorhanden, so sind direkt nach der Herstellung mindestens 90%, bevorzugt 95% der Anzahl der Wirkstoffkristalle in der Anzahlverteilung kleiner als 5 μm . Bei Anwendung von hohen Drücken (z.B. 1000 bar) und einer ausreichenden Anzahl an Homogenisationszyklen erhält man hochdisperse Systeme. In Abhängigkeit von Druck und Zyklenzahl erhält man Dispersionen mit mindestens 90%, teilweise 95% und insbesondere 99% der Anzahl der Kristalle in der Anzahlverteilung kleiner als 1 μm .

Oben wurde die in situ Erzeugung des Wirkstoff-Depots aus Kriställchen durch Herstellung der erfindungsgemäßen Dispersion mit einer Wirkstoffmenge oberhalb der Sättigungslöslichkeit des Systems beschrieben. Alternativ kann auch eine erfindungsgemäße Dispersion mit ausschließlich gelöstem Wirkstoff hergestellt werden, der man nachträglich Wirkstoffkristalle definierter Größe zumischt, z.B. mikronisierter Wirkstoff.

Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Dispersion können handelsübliche O/W-Emulsionen eingesetzt werden (z.B. Lipofundin, Intralipid, Lipovenös, Abbolipid, Deltalipid und Salvilipid) oder es wird eine Emulsion aus Ölphase, Emulgator / Stabilisator und äußerer Phase (z.B. Wasser) hergestellt.

Beispiele für Bestandteile der Ölphase der Emulsionen sind: Sojaöl, Safloröl (Distelöl), langkettige Triglyceride (LCT), mittelkettige Triglyceride (MCT) wie z.B. Miglyole, Fischöle und Öle mit einem erhöhten Anteil an ungesättigten Fettsäuren, acetylierte Partialglyceride wie Stesolid, einzeln oder in Mischungen.

Zur Stabilisierung der Dispersionen können Emulgatoren und Stabilisatoren eingesetzt werden. Diese sind gegebenenfalls bereits in der zur Herstellung der erfindungsgemäßen Dispersion eingesetzten Emulsion enthalten, Zusatz weiterer Emulgatoren und

Stabilisatoren bei der Herstellung der Dispersion kann vorteilhaft sein.

Beispiele für Emulgatoren sind z.B. Ei-Lecithin, Soja-Lecithin,
5 Phospholipide aus Ei oder Soja, Tween 80, Natriumglykocholat und
Natriumlaurylsulfat (SDS). Alternativ kann Stabilisierung durch
Zusatz von Substanzen erfolgen die über andere Mechanismen als
Emulgatoren stabilitätserhöhend wirken, z.B. über sterische
10 Stabilisierung oder Erhöhung der Zetapotentials. Solche Stabilisatoren
sind z.B. Block-Copolymere wie z.B. Poloxamere (z.B. Poloxamer 188 und 407)
und Poloxamine (z.B. Poloxamine 908), Polyvinylpyrrolidon (PVP),
Polyvinylalkohol (PVA), Gelatine, Polysaccharide wie Hyaluronsäure und Chitosan
und ihre Derivate, Polyacrylsäure und ihre Derivate, Polycarbophil, Cellulosederiva-
15 te (Methyl-, Hydroxypropyl- und Carboxymethylcellulose), Zuckerester
wie Saccharosemonostearat und Antiflokkulationen wie Natriumcitrat.
Emulgatoren und Stabilisatoren können einzeln oder in Mischungen
verwendet werden. Typische Konzentrationen sind 0,1% bis 20%,
insbesondere 0,5% bis 10%.

20

Als wäßrige äußere Phase der zur Herstellung der erfindungsgemäßen
Dispersion eingesetzten O/W-Emulsion können dienen: Wasser, Mischungen
von Wasser mit anderen wassermischbaren organischen Flüssigkeiten,
flüssige Polyethylenglykole (PEG, insbesondere PEG 400 und 600).
25

Die wäßrige äußere Phase kann auch Zusätze enthalten, z.B. Elektrolyte,
Nichtelektrolyte (z.B. Glycerol, Glucose, Mannit, Xylit zur Isotonisierung),
Gelbildner wie Cellulosederivate und Polysaccharide wie Xanthan und Alginate
(z.B. zur Viskositäts-
30 erhöhung).

Für die topische Applikation können der Dispersion Penetrations-
verstärker (z.B. Azone, Laurinsäure) und für die Applikation zum
35 Gastrointestinaltrakt Absorptionsverstärker (z.B. Gallensäuren,
Lysophospholipide) zugesetzt werden.

Wirkstoffe zur Einarbeitung in die Emulsion sind neben Amphotericin B z.B. Ciclosporin, Bupravaquon und Atovaquon. Weitere Wirkstoffe sind Hormone (z.B. Estradiol), Antioestrogene und Kortikoide (z.B. Prednicarbat).

5

Die Applikation der Emulsion kann auf verschiedenen Wegen erfolgen, z.B. parenteral aber auch oral oder topisch. Bei parenteraler Applikation sind alle gängigen Wege möglich, z.B. intravenös, intra- und subkutan, intramuskulär, intraartikulär, 10 intraperitoneal etc.

Topische Emulsionen mit Ciclosporin können die Wirkstoffpenetration in die Haut verbessern aufgrund des hohen gelösten Anteils an Arzneistoff (erhöhter Konzentrationsgradient). Orale Applikation der Ciclosporin-Emulsion kann die Bioverfügbarkeit 15 erhöhen da im Gegensatz zu mikronisiertem Ciclosporin ein erhöhter gelöster Anteil vorliegt.

Die Bioverfügbarkeit von oral appliziertem Amphotericin B ist 20 aufgrund seiner geringen Löslichkeit nahezu Null. Orale Applikation der Amphotericin-Emulsion kann aufgrund des erhöhten gelösten Anteils ebenfalls die Bioverfügbarkeit erhöhen.

Die erfindungsgemäßen Emulsionen (z.B. mit Bupravaquon und 25 Atovaquon) können nach intravenöser Injektion auch durch Anlagerung einer Targeting-Einheit (z.B. Apolipoprotein E in Kombination mit Apolipoprotein AI und AIV) für eine gewebs-spezifische Arzneistoffapplikation eingesetzt werden (Targeting zum Gehirn). Erreger lokalisieren bei bestimmten Erkrankungen des 30 monozytären phagocytierten Systems (MPS) auch im Gehirn und sind bisher schwer einer Therapie zugänglich (z.B. Leishmaniosen, Toxoplasmose).

Beispiele

Beispiel 1

- 5 8 mg Amphotericin B wurden mit 40 g Lipofundin N 20 % angerieben (0,2 mg Amphotericin B/ml Emulsion) und die erhaltene Dispersion mit einem Ultra-Turrax-Rührer 5 Minuten bei 8000 Umdrehungen pro Minute gerührt. Anschließend wurde die Dispersion mit einem Micron LAB 40 bei 1.500 bar mit 20 Zyklen hochdruckhomogenisiert.
- 10 Die Partikelgröße wurde mit einem Laserdiffraktometer bestimmt (Coulter LS 230, Coulter Electronics, USA). Der Durchmesser 50 % (D50%) der Volumenverteilung betrug 0,164 µm, D90% 0,340 µm, D95% 0,387 µm, D99% 0,466 µm und D100% 0,700 µm.

15

Beispiel 2

- Es wurde ein Emulsionssystem mit Amphotericin B wie in Beispiel
- 20 1 hergestellt, die eingearbeitete Menge an Amphotericin B betrug jedoch 40 mg (d. h. 1 mg/ml Emulsion). Es wurden folgende Durchmesser gemessen: D50% 0,160 µm, D90% 0,362 µm, D95% 0,406 µm, D99% 0,485 µm und D100% 0,746 µm.

25

Beispiel 3

- Es wurde eine Emulsion analog Beispiel 1 hergestellt, die eingearbeitete Amphotericin B-Menge betrug jedoch 80 mg (d. h.
- 30 2 mg/ml Emulsion). Es wurden folgende Durchmesser gemessen: D50% 0,194 µm, D90% 0,381 µm, D95% 0,423 µm, D99% 0,494 µm und D100% 0,721 µm.

Beispiel 4

40 mg Amphotericin B-Pulver wurden mit 40 g Öl (Mischung 50 : 50 aus LCT und MCT) angerieben und die erhaltene Suspension wie in
5 Beispiel 1 mit einem Ultra-Turrax für 5 Minuten gerührt. Anschließend wurde die Suspension mit einem Hochdruckhomogenisator Micron LAB 40 hochdruckhomogenisiert mit 2 Zyklen bei 150 bar, 2 Zyklen bei 500 bar und anschließend 20 Zyklen bei 1.500 bar. 8 g der erhaltenen öligen Suspension wurden dann in 32 g
10 Wasser dispergiert, das 1,2 % Lecithin enthielt. Dispergierung erfolgte mit einem Ultra-Turrax für 5 Minuten bei 8000 Umdrehungen/Minute. Die erhaltene Dispersion wurde dann mit dem Micron LAB 40 hochdruckhomogenisiert bei 500 bar mit 10 Zyklen. Es wurden folgende Durchmesser gemessen: D50% 0,869 µm, D90%
15 2,151 µm, D95% 2,697 µm, D99% 3,361 µm.

Beispiel 5

20 Es wurde eine Emulsion analog Beispiel 4 hergestellt, allerdings erfolgte die Herstellung der Emulsion mit Hochdruckhomogenisation nicht bei Raumtemperatur, sondern in einem temperaturkontrolliertem LAB 40 bei 50°C. Es wurden folgende Durchmesser gemessen: D50% 0,647 µm, D90% 1,537 µm, D95% 1,768 µm, D99% 2,152 µm und
25 D100% 3,310 µm.

Beispiel 6

30 Es wurde eine Amphotericin B-Emulsion durch Hochdruckhomogenisation analog Beispiel 1 hergestellt (0,2 mg Amphotericin B/ml Emulsion), die Hochdruckhomogenisation der Emulsion erfolgte bei Raumtemperatur. Der Arzneistoff wurde in 1,2%iger wäßriger Tween 80-Lösung angerieben, die Suspension vorhomogenisiert und 80 mg
35 dieser Suspension mit 40g Lipofundin N 20% gemischt. Es wurden

folgende Durchmesser gemessen: D50% 0,142 µm, D90% 0,282 µm, D95% 0,331 µm, D99% 0,459 µm und D100% 0,843 µm.

5 Beispiel 7

Es wurde eine Emulsion analog Beispiel 6 hergestellt, die Amphotericin B-Konzentration betrug jedoch 1 mg/ml Emulsion. Es wurden folgende Durchmesser gemessen: D50% 0,245 µm, D90% 0,390 µm, D95% 0,426 µm, D99% 0,489 µm, D100% 0,700 µm.

Beispiel 8

15 Es wurde eine Emulsion analog Beispiel 6 hergestellt, die Amphotericin B-Konzentration betrug jedoch 2 mg/ml Emulsion. Es wurden folgende Durchmesser gemessen: D50% 0,237 µm, D90% 0,389 µm, D95% 0,426 µm, D99% 0,491 µm, D100% 0,701 µm.

20

Beispiel 9

25 Es wurde eine Emulsion analog Beispiel 6 hergestellt, die Hochdruckhomogenisation der Emulsion erfolgte bei 60°C. Es wurden folgende Durchmesser gemessen: D50% 0,197 µm, D90% 0,388 µm, D95% 0,436 µm, D99% 0,532 µm und D100% 0,953 µm.

Beispiel 10

30

Es wurde eine Emulsion analog Beispiel 7 hergestellt, der Homogenisationsdruck betrug jedoch 500 bar anstatt 1500 bar. Es wurden folgende Durchmesser gemessen: D50% 0,263 µm, D90% 0,401 µm, D95% 0,435 µm, D99% 0,493 µm und D100% 0,657 µm.

Beispiel 11

Die Partikelgrößenverteilung des Amphotericin B-Pulvers wurde mit Laserdiffraktometrie und Lichtmikroskopie analysiert. Abbildung 1 (oben) zeigt die Teilchengrößenverteilungskurve des Pulvers nach Dispergierung in Wasser ermittelt mit Laserdiffraktometrie sowie die Partikelgrößenverteilung nach Einarbeitung in das erfindungsgemäße Emulsionssystem aus Beispiel 2 (Abbildung 1, unten). Im Emulsionssystem sind keine Amphotericin B-Kristalle mehr detektierbar, Amphotericin B wurde in das Emulsionssystem inkorporiert.

Beispiel 12

Die Amphotericin B-Emulsion wurde im Vergleich zu in Wasser dispergierten Amphotericin B-Kristallen mit Lichtmikroskopie untersucht. Abbildung 2 zeigt die lichtmikroskopische Aufnahme des Amphotericin B-Pulvers im polarisierten Licht, aufgrund der Anisotropie der Kristalle erscheinen sie hell. Abbildung 3 zeigt die lichtmikroskopische Aufnahme im polarisierten Licht nach Einarbeitung von Amphotericin B in das Emulsionssystem (Beispiel 1), anisotrope Strukturen sind nicht mehr detektierbar, das gesamte Bild ist nahezu schwarz. Für die Lichtmikroskopie wurde das Emulsionssystem unverdünnt auf den Objektträger aufgetragen.

Beispiel 13

Bupravaquon wurde analog zu Amphotericin B wie in Beispiel 6 in ein Emulsionssystem eingearbeitet. Es wurden folgende Durchmesser gemessen: D50% 0,399 μm , D90% 0,527 μm , D95% 0,564 μm , D99% 0,635 μm und D100% 0,843 μm .

Beispiel 14

Atovaquon wurde analog zu Beispiel 1 anstelle von Amphotericin B in ein Emulsionssystem eingearbeitet. Es wurden folgende Durchmesser gemessen: D50% 0,297 μm , D90% 0,437 μm , D95% 0,475 μm , D99% 0,540 μm und D100% 0,744 μm .

Beispiel 15

Es wurde eine Emulsion analog Beispiel 1 hergestellt, die Menge an eingearbeitetem Amphotericin betrug jedoch 5 mg/ml Emulsion. Die Löslichkeit in der Dispersion für Amphotericin war überschritten, neben Öltropfen lagen Arzneistoffkristalle vor (heterogene Dispersion).

Erklärungen zu Abbildungen:

Abb. 1: Partikelgrößenverteilung des Amphotericin-Pulvers vor Einarbeitung in die Dispersion (oben) und Partikelgrößenanalyse der erfindungsgemäßen Dispersion nach Einarbeitung des Amphotericin-Pulvers (unten, Beispiel 2), die Arzneistoffpartikel sind nicht mehr detektierbar (Laserdiffraktometrie)

Abb. 2: Lichtmikroskopische Aufnahme des Amphotericin-Pulvers vor Einarbeitung in die O/W-Emulsion (Beispiel 1) (Polarisations-Aufnahme im Dunkelfeld, anisotrope Kristalle erscheinen weiß, Balken wie in Abb. 3 (10 μm)).

Abb. 3: Lichtmikroskopische Aufnahme der O/W-Emulsion nach Einarbeitung des Amphotericin-Pulvers aus Abb. 2 (Beispiel 1) (Polarisations-Aufnahme, im Dunkelfeld nur schemenhafte Reflexe der isotropen Emulsionstropfen, Balken 10 μm).

Patentansprüche

1. Dispersion, die eine ölige Phase und eine wäßrige Phase in Form einer O/W-Emulsion, mindestens einen in der öligen und der wäßrigen Phase wenig oder schwer löslichen Wirkstoff sowie gegebenenfalls einen oder mehrere Emulgator(en) und/oder Stabilisator(en) umfaßt, dadurch gekennzeichnet, daß die Dispersion frei von toxikologisch bedenklichen organischen Lösungsmitteln ist und den Wirkstoff gelöst in einer Menge enthält, die höher ist als die Menge, die sich additiv aus seiner maximalen Löslichkeit in der öligen und der wäßrigen Phase der Emulsion ergibt.
2. Dispersion nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Arzneistoff zusätzlich zum gelösten Zustand noch in hochdisperser fester kristalliner Form vorliegt, wodurch sich eine Dispersion mit einer heterogenen dispersen Phase aus Öltröpfen und aus Arzneistoffkristallen ergibt.
3. Dispersion nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens 90%, bevorzugt 95% der vorhandenen Kristalle kleiner als 5 µm sind.
4. Dispersion nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens 90%, bevorzugt 95% und insbesondere 99% der Kristalle kleiner als 1 µm sind.
5. Dispersion nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die eingesetzte O/W-Emulsion Lipofundin, Intralipid, Lipovenös, Abbolipid, Deltalipid oder Salvilipid ist.
6. Dispersion nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß sie als Emulgatoren Ei-Lecithin, Soja-Lecithin, Phospholipide aus Ei oder Soja, Tween 80, oder

Natriumglykocholat und/oder als Stabilisatoren Block-Copolymere, insbesondere Poloxamere (bevorzugt Poloxamer 188 und 407) oder Poloxamine (bevorzugt Poloxamine 908), Polyvinylpyrrolidon (PVP), Polyvinylalkohol (PVA), Gelatine, Polysaccharide (bevorzugt Hyaluronsäure oder Chitosan und ihre Derivate), Polyacrylsäure und ihre Derivate, Polycarbophil, Cellulosederivate (bevorzugt Methyl-, Hydroxypropyl- und Carboxymethylcellulose), Zuckerester (bevorzugt Saccharosemonostearat) oder Natriumcitrat einzeln oder in irgendeiner Mischung derselben enthält.

7. Dispersion nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß sie als Ölphase Sojaöl, Safloröl, langkettige Triglyceride (LCT), mittelkettige Triglyceride (MCT), insbesondere Miglyole, Fischöle und Öle mit einem erhöhten Anteil an ungesättigten Fettsäuren, acetylierte Partialglyceride (bevorzugt Stesolid) einzeln oder in Mischungen enthält.
8. Dispersion nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß sie als wäßrige Phase Wasser, Mischungen von Wasser mit wassermischbaren organische Flüssigkeiten, insbesondere flüssigen Polyethylenglykolen (PEG) (bevorzugt PEG 400 und 600) enthält.
9. Dispersion nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die wäßrige Phase Zusätze enthält, insbesondere Elektrolyte, Nichtelektrolyte (bevorzugt Glycerol, Glucose, Mannit, Xylit zur Isotonisierung) und/oder Gelbildner (bevorzugt Cellulosederivate zur Viskositätserhöhung).
10. Dispersion nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß als Wirkstoff ein Antimykotikum (bevorzugt Amphotericin B), ein Antiinfektivum (bevorzugt Bupravaquon oder Atovaquon), ein Immunsuppressivum (bevorzugt

Cyclosporin A oder eines seiner natürlichen und synthetischen Derivate), ein Mittel zur Tumorthherapie (bevorzugt Paclitaxel oder Taxotere) enthält.

11. Dispersion nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß sie topisch, oral, peroral sowie parenteral, insbesondere intravenös, intra- und subkutan, intramuskulär, intraartikulär, intraperitoneal, oder applizierbar ist.
12. Verfahren zur Herstellung einer Zusammensetzung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, eine wäßrige Phase und eine ölige Phase, die nicht oder nur teilweise miteinander mischbar sind, sowie gegebenenfalls ein oder mehrere Emulgator(en) und/oder Stabilisator(en) und eine feste Phase, die mindestens einen in der öligen und der wäßrigen Phase wenig oder schwer löslichen Wirkstoff umfaßt, miteinander gemischt werden und die erhaltene Mischung aus flüssigen und festen Phasen einem hochenergetischen Homogenisationsprozeß mit einem Homogenisator unterzogen werden, wobei keine toxikologisch bedenklichen organischen Lösungsmittel verwendet werden.
13. Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff ohne vorherige Auflösung als Feststoff in die flüssigen Phasen der Dispersion eingearbeitet wurde.
14. Verfahren nach Anspruch 12 oder 13, dadurch gekennzeichnet, daß der pulverisierte Wirkstoff mit einer O/W-Emulsion angerieben oder gemischt wird und diese Prä-Dispersion der Homogenisation oder Hochdruckhomogenisation unterzogen wird.
15. Verfahren nach Anspruch 12 oder 13, dadurch gekennzeichnet, daß der pulverisierte Wirkstoff in einer Tensidlösung dispergiert wird, diese Dispersion homogenisiert wird,

anschließend mit einer O/W-Emulsion gemischt wird und die so erhaltene Prä-Dispersion der Homogenisation oder Hochdruckhomogenisation unterzogen wird.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß als Homogenisator ein Rotor-Stator-Homogenisator (vorzugsweise eine Kolloidmühle) oder ein Hochdruckhomogenisator (vorzugsweise ein Kolben-Spalt-Homogenisator (APV Gaulin, French Press, Niro, Stansted) oder ein Rohrhomogenisator (jet stream) (Microfluidizer oder Nanojet)) eingesetzt wird.
17. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff in einer solchen Menge eingesetzt wird, daß sich der Wirkstoff am Ende des Homogenisationsprozesses vollständig oder nahezu vollständig aufgelöst hat, so daß sich im Lichtmikroskop selbst bei 1000 facher Vergrößerung in 2 von 3 Feldern nicht mehr als 10 Kristalle, vorzugsweise nicht mehr als 5 Kristalle und insbesondere nicht mehr als 1 Kristall nachweisen lassen/läßt.
18. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff in einer solchen Menge eingesetzt wird, daß am Ende des Homogenisationsprozesses neben dem gelösten Anteil des Wirkstoffs noch ein Anteil des Wirkstoffs in ungelöster kristalliner Form vorliegt, der ein Depot bildet.

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft eine Dispersion, die eine ölige Phase und eine wäßrige Phase in Form einer O/W-Emulsion, mindestens einen in der öligen und der wäßrigen Phase wenig oder schwer löslichen Wirkstoff sowie gegebenenfalls einen oder mehrere Emulgator(en) und/oder Stabilisator(en) umfaßt, wobei die Dispersion frei von toxikologisch bedenklichen organischen Lösungsmitteln ist und den Wirkstoff gelöst in einer Menge enthält, die höher ist als die Menge, die sich additiv aus seiner maximalen Löslichkeit in der öligen und der wäßrigen Phase der Emulsion ergibt.

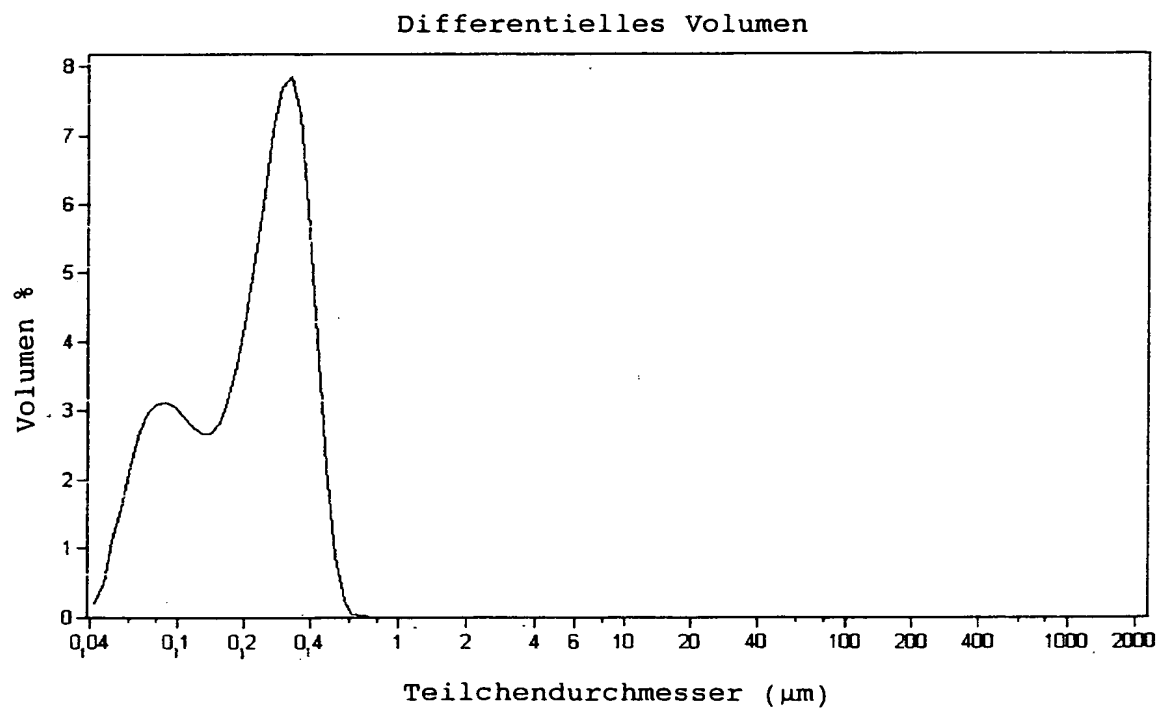
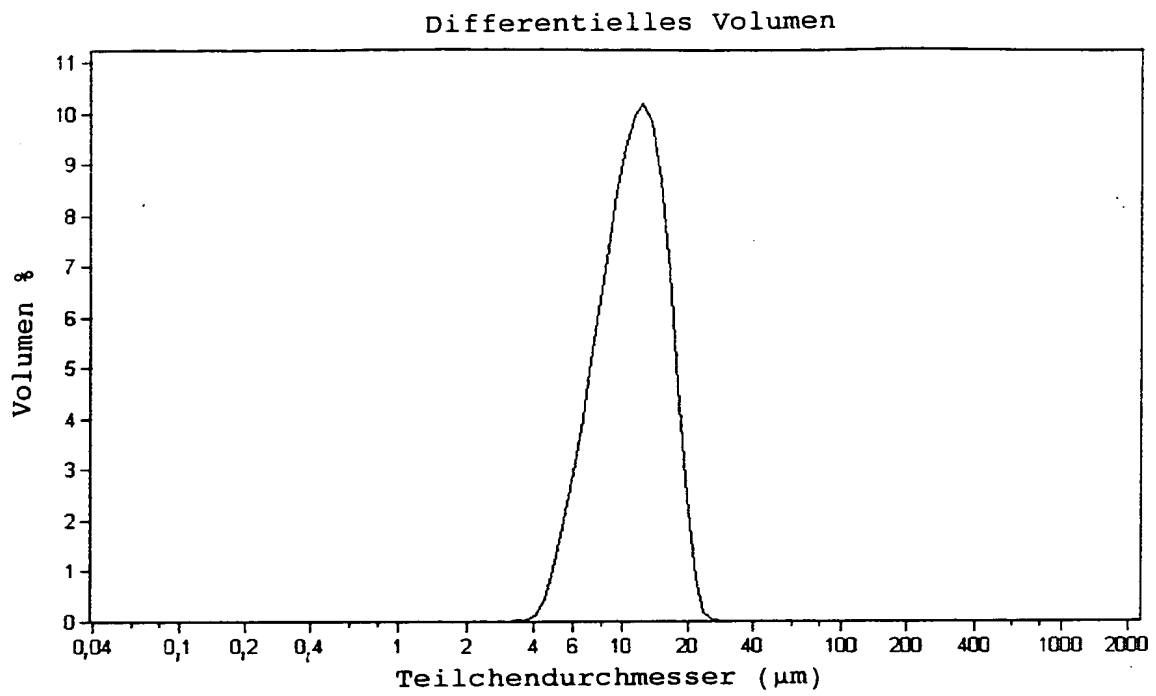


Abbildung 1

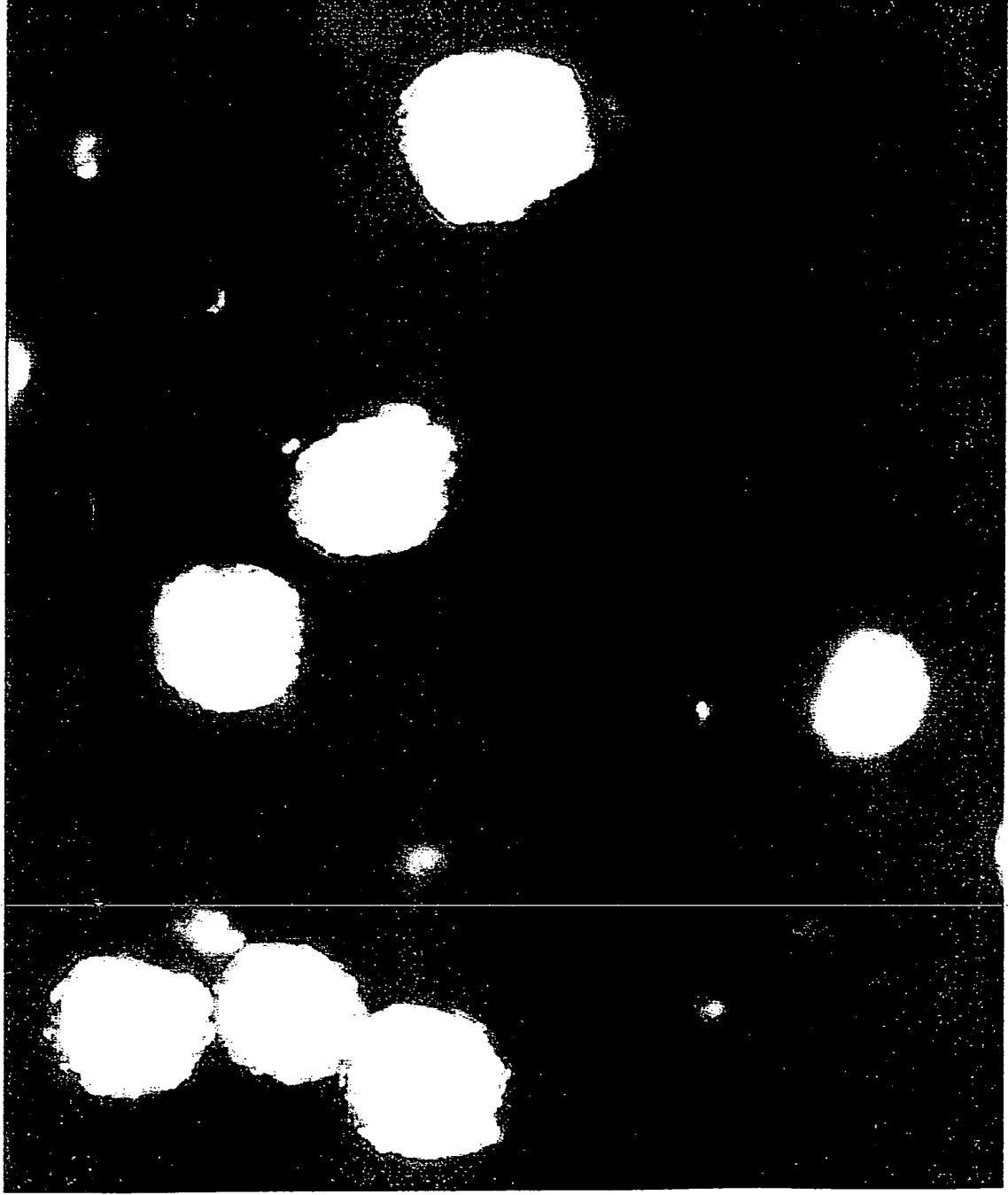


Abbildung 2

10 μm

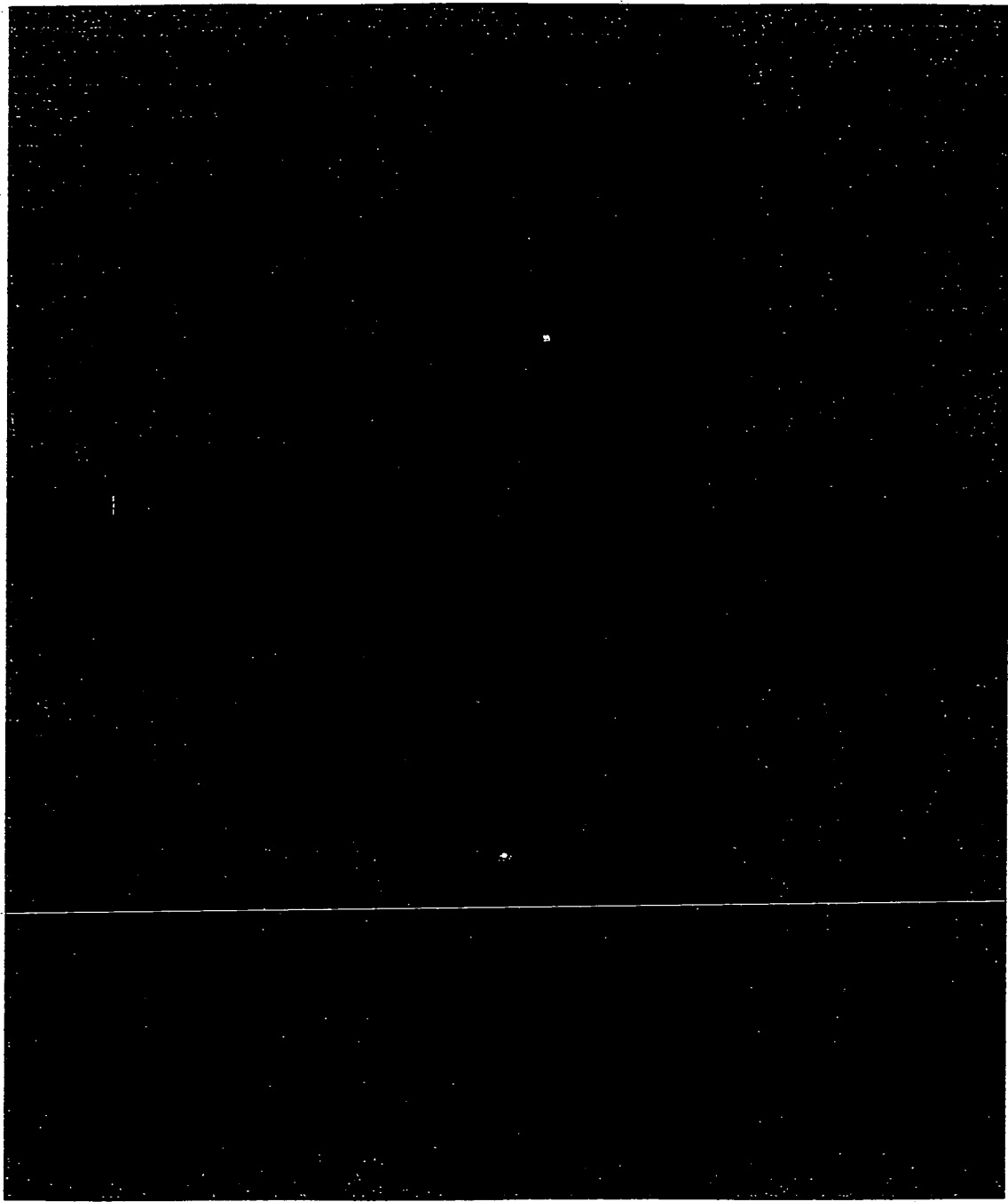


Abbildung 3

10 μm